
Norme internationale



6736

INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION • МЕЖДУНАРОДНАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ ПО СТАНДАРТИЗАЦИИ • ORGANISATION INTERNATIONALE DE NORMALISATION

Lait sec — Détermination des teneurs en nitrates et en nitrites — Méthode par réduction au cadmium et photométrie

Dried milk — Determination of nitrate and nitrite contents — Method by cadmium reduction and photometry

Première édition — 1982-12-01

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

[ISO 6736:1982](#)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/cc09a63a-02e7-4098-ab4d-173edfb4173c/iso-6736-1982>

CDU 637.143 : 543.242.8 : 546.173/.175

Réf. n° : ISO 6736-1982 (F)

Descripteurs : produit agricole, produit laitier, lait, lait en poudre, analyse chimique, dosage, nitrate, nitrite, méthode spectrophotométrique.

Prix basé sur 6 pages

Avant-propos

L'ISO (Organisation internationale de normalisation) est une fédération mondiale d'organismes nationaux de normalisation (comités membres de l'ISO). L'élaboration des Normes internationales est confiée aux comités techniques de l'ISO. Chaque comité membre intéressé par une étude a le droit de faire partie du comité technique correspondant. Les organisations internationales, gouvernementales et non gouvernementales, en liaison avec l'ISO, participent également aux travaux.

Les projets de Normes internationales adoptés par les comités techniques sont soumis aux comités membres pour approbation, avant leur acceptation comme Normes internationales par le Conseil de l'ISO.

La Norme internationale ISO 6736 a été élaborée par le comité technique ISO/TC 34, *Produits agricoles alimentaires*, et a été soumise aux comités membres en juin 1981.

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

Les comités membres des pays suivants l'ont approuvée :

[ISO 6736:1982](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/cc09a63a-02e7-4098-ab4d-173edfba173c/iso-6736-1982)

Afrique du Sud, Rép. d'	France	Portugal
Allemagne, R.F.	Hongrie	Roumanie
Australie	Inde	Royaume-Uni
Autriche	Iraq	Sri Lanka
Belgique	Israël	Tanzanie
Canada	Nouvelle-Zélande	Tchécoslovaquie
Corée, Rép. de	Pays-Bas	Thaïlande
Égypte, Rép. arabe d'	Pérou	Turquie
Espagne	Philippines	URSS
Éthiopie	Pologne	Yougoslavie

Aucun comité membre ne l'a désapprouvée.

Lait sec — Détermination des teneurs en nitrates et en nitrites — Méthode par réduction au cadmium et photométrie

1 Objet et domaine d'application

La présente Norme internationale spécifie une méthode par réduction au cadmium et photométrie, pour la détermination des teneurs en nitrates et en nitrites du lait sec.

La méthode est applicable au lait sec entier, écrémé ou partiellement écrémé.

NOTE — Des méthodes de détermination des teneurs en nitrates et en nitrites du fromage de sérum et du lactosérum sont spécifiées respectivement dans l'ISO 6739 et l'ISO 6740.

2 Référence

ISO 707, *Lait et produits laitiers — Méthodes d'échantillonnage*.¹⁾

3 Définition

teneurs en nitrates et nitrites du lait sec : Teneurs en substances déterminées selon la méthode spécifiée dans la présente Norme internationale et exprimées respectivement en milligrammes d'ion nitrate (NO_3^-) et d'ion nitrite (NO_2^-) par kilogramme (parties par million).

4 Principe

Dissolution du lait sec dans de l'eau chaude, précipitation de la matière grasse et des protéines, et filtration.

Sur une portion du filtrat, réduction, à l'état de nitrites, des nitrates extraits, au moyen de cadmium cuivré.

Développement d'une coloration rouge à partir de portions de filtrat non réduit et à partir de portions de filtrat réduit, par addition de sulfanilamide et de dichlorhydrate de *N*-(naphtyl-1)éthylène diamine, puis mesurage photométrique à une longueur d'onde de 538 nm.

Calcul de la teneur en nitrites de l'échantillon et de la teneur totale en nitrites après réduction des nitrates, par comparaison des absorbances mesurées avec celles d'une série de solutions étalons de nitrite de sodium; calcul de la teneur en nitrates à partir de la différence entre ces deux teneurs.

5 Réactifs

Tous les réactifs doivent être de qualité analytique reconnue. L'eau utilisée doit être de l'eau distillée ou désionisée, exempte de nitrates et de nitrites.

NOTE — Dans le but d'éviter l'inclusion de petites bulles de gaz dans la colonne de cadmium cuivré (6.10), l'eau distillée ou désionisée, utilisée pour la préparation de la colonne (8.1), pour la vérification du pouvoir réducteur de la colonne (8.2) et pour la régénération de la colonne (8.3), doit être de préférence récemment bouillie puis refroidie à la température ambiante.

5.1 Cadmium, sous forme de granulés, diamètre des particules 0,3 à 0,8 mm.

S'il n'est pas possible de se procurer dans le commerce des granulés de cadmium, ceux-ci peuvent être préparés de la manière suivante.

Placer, dans un béccher, un nombre convenable de baguettes de zinc et les recouvrir avec une solution de sulfate de cadmium octohydraté ($\text{CdSO}_4 \cdot 8\text{H}_2\text{O}$) à 40 g/l. Gratter de temps en temps le cadmium spongieux déposé sur les baguettes et cela durant une période de 24 h. Retirer les baguettes de zinc et décanter le liquide jusqu'à ce qu'il en reste seulement une quantité suffisante pour recouvrir le cadmium. Laver deux ou trois fois le cadmium spongieux avec de l'eau. Transférer le cadmium dans un broyeur de laboratoire avec 400 ml de solution d'acide chlorhydrique à 0,1 mol/l et broyer durant quelques secondes afin d'obtenir des granulés de la dimension requise. Replacer le contenu du broyeur dans le béccher et l'y maintenir durant plusieurs heures en agitant de temps en temps pour chasser les bulles. Décanter la majeure partie du liquide et procéder immédiatement au cuivrage comme décrit de 8.1.1 à 8.1.5.

5.2 Sulfate de cuivre(II), solution.

Dissoudre 20 g de sulfate de cuivre(II) pentahydraté ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) dans de l'eau et compléter à 1000 ml.

5.3 Solution tampon, de pH 9,6 à 9,7.

Diluer 50 ml d'acide chlorhydrique concentré [ρ_{20} 1,19 g/ml; solution à environ 38 % (*m/m*)] avec 600 ml d'eau. Après mélange, ajouter 135 ml de solution d'hydroxyde d'ammonium concentrée [ρ_{20} 0,91 g/ml; solution à environ 25 % (*m/m*)]. Compléter à 1000 ml avec de l'eau et homogénéiser.

1) Actuellement au stade de projet. (Révision de l'ISO/R 707-1968.)

NOTE — Si la solution d'hydroxyde d'ammonium n'est pas disponible à cette concentration, une quantité équivalente d'une solution plus concentrée peut être utilisée, par exemple 100 ml de solution à 35 % (m/m) (ρ_{20} 0,88 g/ml).

Ajuster le pH de 9,6 à 9,7 si nécessaire.

5.4 Acide chlorhydrique, solution à environ 2 mol/l.

Diluer 160 ml d'acide chlorhydrique concentré (ρ_{20} 1,19 g/ml) à 1000 ml avec de l'eau.

5.5 Acide chlorhydrique, solution à environ 0,1 mol/l.

Diluer 50 ml de la solution d'acide chlorhydrique (5.4) à 1000 ml avec de l'eau.

5.6 Solutions pour la précipitation des protéines et de la matière grasse.

5.6.1 Sulfate de zinc, solution.

Dissoudre 53,5 g de sulfate de zinc heptahydraté ($ZnSO_4 \cdot 7H_2O$) dans de l'eau et compléter à 100 ml.

5.6.2 Hexacyanoferrate(II) de potassium, solution.

Dissoudre 17,2 g d'hexacyanoferrate(II) de potassium trihydraté [$K_4Fe(CN)_6 \cdot 3H_2O$] dans de l'eau et compléter à 100 ml.

5.7 EDTA, solution.

Dissoudre 33,5 g d'éthylène diamine tétraacétate disodique dihydraté ($Na_2C_{10}H_{14}N_2O_8 \cdot 2H_2O$) dans de l'eau et compléter à 1000 ml.

5.8 Solutions pour le développement de la coloration.

5.8.1 Solution I.

Dissoudre, en chauffant au bain d'eau, 0,5 g de sulfanilamide ($NH_2C_6H_4SO_2NH_2$) dans un mélange constitué par 75 ml d'eau et 5 ml d'acide chlorhydrique concentré (ρ_{20} 1,19 g/ml). Refroidir à la température ambiante et compléter à 100 ml avec de l'eau. Filtrer si nécessaire.

5.8.2 Solution II.

Diluer 450 ml d'acide chlorhydrique concentré (ρ_{20} 1,19 g/ml) à 1000 ml avec de l'eau.

5.8.3 Solution III.

Dissoudre 0,1 g de dichlorhydrate de *N*-(naphtyl-1) éthylène diamine ($C_{10}H_7NHCH_2CH_2NH_2 \cdot 2HCl$) dans de l'eau. Compléter à 100 ml avec de l'eau. Filtrer si nécessaire.

La solution peut être conservée jusqu'à 1 semaine au réfrigérateur, dans un récipient en verre brun bien bouché.

5.9 Nitrite de sodium, solution étalon correspondant à 0,001 g d'ion nitrite par litre.

Le jour de l'utilisation, dissoudre 0,150 g de nitrite de sodium ($NaNO_2$), préalablement séché à 110 à 120 °C jusqu'à masse constante, dans de l'eau; compléter à 1000 ml avec de l'eau dans une fiole jaugée et homogénéiser.

Diluer 10 ml de cette solution avec 20 ml de la solution tampon (5.3), compléter ensuite à 1000 ml avec de l'eau dans une fiole jaugée et homogénéiser.

1 ml de cette solution étalon contient 1,00 µg de NO_2^- .

5.10 Nitrate de potassium, solution étalon correspondant à 0,004 5 g d'ion nitrate par litre.

Dissoudre 1,468 g de nitrate de potassium (KNO_3), préalablement séché à 110 à 120 °C jusqu'à masse constante, dans de l'eau; compléter à 1000 ml avec de l'eau dans une fiole jaugée et homogénéiser.

Le jour de l'utilisation, diluer 5 ml de cette solution avec 20 ml de la solution tampon (5.3), compléter ensuite à 1000 ml avec de l'eau dans une fiole jaugée et homogénéiser.

1 ml de cette solution étalon contient 4,50 µg de NO_3^- .

6 Appareillage

Toute la verrerie doit être soigneusement lavée et rincée avec de l'eau distillée pour être certain qu'elle est exempte de nitrates et de nitrites.

Matériel courant de laboratoire, et notamment

6.1 Balance analytique.

6.2 Récipient pour échantillon, muni d'un couvercle étanche à l'air.

6.3 Fioles coniques, de 250 ml de capacité.

6.4 Fiole conique, de 500 ml de capacité.

6.5 Fioles jaugées à un trait, de 100 — 500 et 1000 ml de capacités, conformes aux spécifications de l'ISO 1042, classe B.

6.6 Pipettes, permettant de délivrer 2 — 4 — 5 — 6 — 8 — 10 — 12 — 20 — 25 et 50 ml, conformes aux spécifications de l'ISO 648, classe A, ou de l'ISO 835.

NOTE — Le cas échéant, des burettes peuvent être utilisées à la place des pipettes.

6.7 Éprouvettes graduées, de 5 — 10 — 25 — 100 — 250 — 500 et 1000 ml de capacités.

6.8 Entonnoirs en verre, d'environ 7 cm de diamètre, à tige courte.

6.9 Papier filtre, pour filtration moyenne, d'environ 15 cm de diamètre, exempt de nitrates et de nitrites.

6.10 Appareil pour la réduction des nitrates (par exemple celui qui est représenté par la figure).

6.11 Colorimètre photoélectrique, ou **spectrophotomètre**, permettant d'effectuer des mesurages à une longueur d'onde de 538 nm, avec **cellules** de 1 à 2 cm de parcours optique.

7 Échantillonnage

Voir ISO 707.

8 Mode opératoire

8.1 Préparation de la colonne de cadmium cuivré

8.1.1 Introduire les granulés de cadmium (5.1) (environ 40 à 60 g pour chaque colonne) dans une fiole conique (6.3).

8.1.2 Ajouter une quantité suffisante de la solution d'acide chlorhydrique (5.4) pour couvrir le cadmium. Agiter durant quelques minutes.

8.1.3 Décanté la solution, puis laver à fond le cadmium dans la fiole avec de l'eau jusqu'à ce qu'il soit exempt de chlorures.

8.1.4 Cuivrer les granulés de cadmium par addition de la solution de sulfate de cuivre(II) (5.2) (environ 2,5 ml par gramme de cadmium) et agitation durant 1 min.

8.1.5 Aussitôt après, décanté la solution, puis laver le cadmium cuivré avec de l'eau, en prenant soin que le cadmium soit continuellement couvert d'eau. Arrêter le lavage lorsque l'eau de lavage est exempte de cuivre précipité.

8.1.6 Placer un tampon de laine de verre à la base de la colonne en verre destinée à contenir le cadmium cuivré (voir la figure). Remplir la colonne en verre avec de l'eau.

8.1.7 Transférer le cadmium cuivré dans la colonne en verre, en réduisant à un minimum l'exposition à l'air. La hauteur de cadmium cuivré devrait être de 15 à 20 cm.

NOTES

1 Éviter d'enfermer des bulles d'air entre les granulés de cadmium cuivré.

2 Éviter de laisser le liquide descendre en dessous du niveau du cadmium cuivré.

8.1.8 Conditionner la colonne qui vient d'être préparée en y faisant circuler un mélange constitué par 750 ml d'eau, 225 ml de la solution étalon de nitrate de potassium (5.10), 20 ml de la solution tampon (5.3) et 20 ml de la solution d'EDTA (5.7), à un débit ne dépassant pas 6 ml/min. Laver ensuite la colonne avec 50 ml d'eau.

8.2 Contrôle du pouvoir réducteur de la colonne

Procéder à ce contrôle au moins deux fois par jour, au début et à la fin d'une série de déterminations.

8.2.1 Prélever, à la pipette, 20 ml de la solution étalon de nitrate de potassium (5.10) et les introduire dans le réservoir situé à la partie supérieure de la colonne. Ajouter immédiatement 5 ml de la solution tampon (5.3) au contenu du réservoir. Recueillir l'éluat dans une fiole jaugée de 100 ml. Le débit ne doit pas dépasser 6 ml/min.

8.2.2 Lorsque le réservoir est presque vide, laver les parois avec environ 15 ml d'eau et, lorsque celle-ci s'est écoulée, répéter le même traitement avec une autre portion de 15 ml d'eau. Lorsque cette deuxième portion est complètement passée dans la colonne, remplir complètement le réservoir avec de l'eau et la laisser s'écouler à travers la colonne en opérant au débit maximal.

8.2.3 Après avoir recueilli près de 100 ml d'éluat, enlever la fiole jaugée, compléter au trait repère avec de l'eau et homogénéiser.

8.2.4 Prélever, à la pipette, 10 ml de l'éluat et les introduire dans une fiole jaugée de 100 ml. Ajouter de l'eau pour obtenir un volume d'environ 60 ml. Procéder comme il est spécifié en 8.8.2, 8.8.3 et 8.8.4.

8.2.5 À partir de la teneur en nitrites (en microgrammes d'ion nitrite par millilitre) de l'éluat dilué (8.2.4), déterminée au moyen de la courbe d'étalonnage (8.10), calculer la capacité de réduction de la colonne (0,067 µg de NO₂ par millilitre correspond à une capacité de réduction de 100 %). Si la capacité de réduction est inférieure à 95 %, la colonne doit être régénérée.

8.3 Régénération de la colonne

Régénérer la colonne, comme suit, après l'emploi, à la fin de chaque journée, ou plus fréquemment si le contrôle (8.2) démontre une perte de l'efficacité.

8.3.1 Ajouter environ 5 ml de la solution d'EDTA (5.7) et 2 ml de la solution d'acide chlorhydrique (5.5) à 100 ml d'eau. Faire passer ce mélange à travers la colonne, à un débit d'environ 10 ml/min.

8.3.2 Lorsque le réservoir est vide, laver la colonne successivement avec de l'eau, avec de la solution d'acide chlorhydrique (5.5), puis avec de l'eau.

8.3.3 Si la colonne montre encore une efficacité insuffisante, répéter les opérations spécifiées en 8.1.8.

8.4 Préparation de l'échantillon pour essai

Transvaser le lait sec dans un récipient de capacité environ double du volume de la poudre, muni d'un couvercle étanche à l'air. Fermer le récipient immédiatement. Bien mélanger le lait sec au moyen d'agitations et de retournements répétés du récipient.

8.5 Prise d'essai

Peser, à 0,001 g près, environ 10 g de l'échantillon pour essai et les transférer quantitativement dans la fiole conique (6.4).

8.6 Extraction et déprotéination

8.6.1 Ajouter progressivement 112 ml d'eau tiède (50 à 55 °C) à la prise d'essai et dissoudre la poudre en agitant au moyen d'une baguette de verre ou en agitant la fiole.

8.6.2 Ajouter, dans l'ordre suivant, 24 ml de la solution de sulfate de zinc (5.6.1), 24 ml de la solution d'hexacyanoferrate(II) de potassium (5.6.2) et 40 ml de la solution tampon (5.3), en agitant soigneusement après chaque ajout.

8.6.3 Laisser reposer 15 min au moins, mais pas plus de 1 h. Ensuite filtrer la solution sur papier filtre (6.9), en recueillant le filtrat dans une fiole conique de 250 ml.

NOTE — Il est essentiel d'avoir un filtrat limpide et il peut donc être nécessaire de laisser reposer la solution plus de 15 min.

8.7 Réduction des nitrates en nitrites

8.7.1 Prélever, à la pipette, 20 ml du filtrat (8.6.3) et les introduire dans le réservoir situé à la partie supérieure de la colonne. Ajouter 5 ml de la solution tampon (5.3) au contenu du réservoir et mélanger en agitant avec une petite baguette de verre. Recueillir l'éluat dans une fiole jaugée de 100 ml. Le débit ne doit pas dépasser 6 ml/min.

8.7.2 Lorsque le réservoir est presque vide, laver les parois avec environ 15 ml d'eau et, lorsque celle-ci s'est écoulée, répéter le même traitement avec une autre portion de 15 ml d'eau. Lorsque cette deuxième portion est complètement passée dans la colonne, remplir complètement le réservoir avec de l'eau et la laisser s'écouler à travers la colonne en opérant au débit maximal.

8.7.3 Après avoir recueilli près de 100 ml d'éluat, enlever la fiole jaugée, compléter au trait repère avec de l'eau et homogénéiser.

8.8 Détermination

8.8.1 Introduire respectivement, dans des fioles jaugées de 100 ml distinctes, des volumes égaux prélevés à la pipette (par exemple 25 ml) du filtrat (8.6.3) et de l'éluat (8.7.3). Ajouter de l'eau dans chacune des fioles afin d'obtenir des volumes d'environ 60 ml. Traiter ensuite le contenu de chaque fiole comme il est spécifié en 8.8.2, 8.8.3 et 8.8.4.

8.8.2 Ajouter 6 ml de la solution II (5.8.2) et ensuite 5 ml de la solution I (5.8.1). Mélanger avec soin et abandonner la solution durant 5 min à la température ambiante et à l'abri de la lumière solaire directe.

8.8.3 Ajouter 2 ml de la solution III (5.8.3). Mélanger avec soin et abandonner la solution durant 5 min à la température ambiante et à l'abri de la lumière solaire directe. Compléter au trait repère avec de l'eau et homogénéiser.

8.8.4 Mesurer, dans les 15 min qui suivent, l'absorbance de la solution par rapport à celle d'un essai à blanc des réactifs (8.9) à une longueur d'onde de 538 nm.

8.9 Essai à blanc

Effectuer un essai à blanc des réactifs en utilisant tous les réactifs, mais sans la prise d'essai.

8.10 Courbe d'étalonnage

8.10.1 Prélever, à la pipette, 0 — 2 — 4 — 6 — 8 — 10 — 12 — 16 et 20 ml de la solution étalon de nitrite de sodium (5.9) et les introduire dans des fioles jaugées de 100 ml distinctes. Ajouter de l'eau dans chacune des fioles afin d'obtenir des volumes d'environ 60 ml.

8.10.2 Appliquer le mode opératoire décrit en 8.8.2 et 8.8.3.

8.10.3 Mesurer, dans les 15 min qui suivent, les absorbances des solutions par rapport à celle de la première solution (ne contenant pas de nitrites) à une longueur d'onde de 538 nm.

8.10.4 Tracer la courbe des absorbances obtenues en 8.10.3 en fonction des concentrations en nitrite, en microgrammes par millilitre, calculées à partir des volumes de solution étalon de nitrite de sodium ajoutés (voir 8.10.1).

9 Expression des résultats

9.1 Teneur en nitrites

9.1.1 Mode de calcul et formule

La teneur en nitrites de l'échantillon, exprimée en milligrammes d'ion nitrite (NO₂) par kilogramme, est égale à

$$\frac{20\,000 \times c_1}{m \times V}$$

où

c_1 est la concentration, en microgrammes d'ion nitrite par millilitre, lue sur la courbe d'étalonnage et correspondant à l'absorbance mesurée (8.8.4) de la solution obtenue avec le filtrat (8.6.3);

m est la masse, en grammes, de la prise d'essai;

V est le volume, en millilitres, prélevé (8.8.1) à partir du filtrat (8.6.3).

Exprimer le résultat à 0,1 mg/kg près.

9.1.2 Répétabilité

La différence entre deux résultats obtenus dans un court intervalle de temps, par le même analyste, ne doit pas dépasser 1 mg/kg.

9.2 Teneur en nitrates

9.2.1 Mode de calcul et formule

La teneur en nitrates de l'échantillon, exprimée en milligrammes d'ion nitrate (NO_3^-) par kilogramme, est égale à

$$1,35 \left(\frac{100\,000 \times c_2}{m \times V} - \text{NO}_2^- \right)$$

où

c_2 est la concentration, en microgrammes d'ion nitrite par millilitre, lue sur la courbe d'étalonnage et correspondant à l'absorbance mesurée (8.8.4) de la solution obtenue avec l'éluat (8.7.3);

NO_2^- est la teneur en nitrites de l'échantillon, exprimée en milligrammes par kilogramme, calculée comme il est décrit en 9.1.1;

m est la masse, en grammes, de la prise d'essai;

V est le volume, en millilitres, prélevé (8.8.1) à partir de l'éluat (8.7.3).

NOTE — Si l'on tient compte de la capacité de réduction de la colonne, la teneur en nitrates de l'échantillon, exprimée en milligrammes d'ion nitrate par kilogramme, est égale à

$$1,35 \left(\frac{100\,000 \times c_2}{m \times V} - \text{NO}_2^- \right) \frac{100}{r}$$

où r est la capacité de réduction de la colonne à la fin d'une série de déterminations.

Exprimer le résultat à 1 mg/kg près.

9.2.2 Répétabilité

La différence entre deux résultats obtenus dans un court intervalle de temps, par le même analyste, ne doit pas dépasser 3 mg/kg si la teneur en nitrates est inférieure à 30 mg/kg, et ne doit pas dépasser 10 % de la moyenne arithmétique des résultats si la teneur en nitrates est égale ou supérieure à 30 mg/kg.

10 Procès-verbal d'essai

Le procès-verbal d'essai doit indiquer la méthode utilisée et les résultats obtenus. Il doit, en outre, mentionner tous les détails opératoires non prévus dans la présente Norme internationale, ou facultatifs, ainsi que les incidents éventuels susceptibles d'avoir agi sur les résultats.

Le procès-verbal d'essai doit donner tous les renseignements nécessaires à l'identification complète de l'échantillon.

Dimensions en millimètres

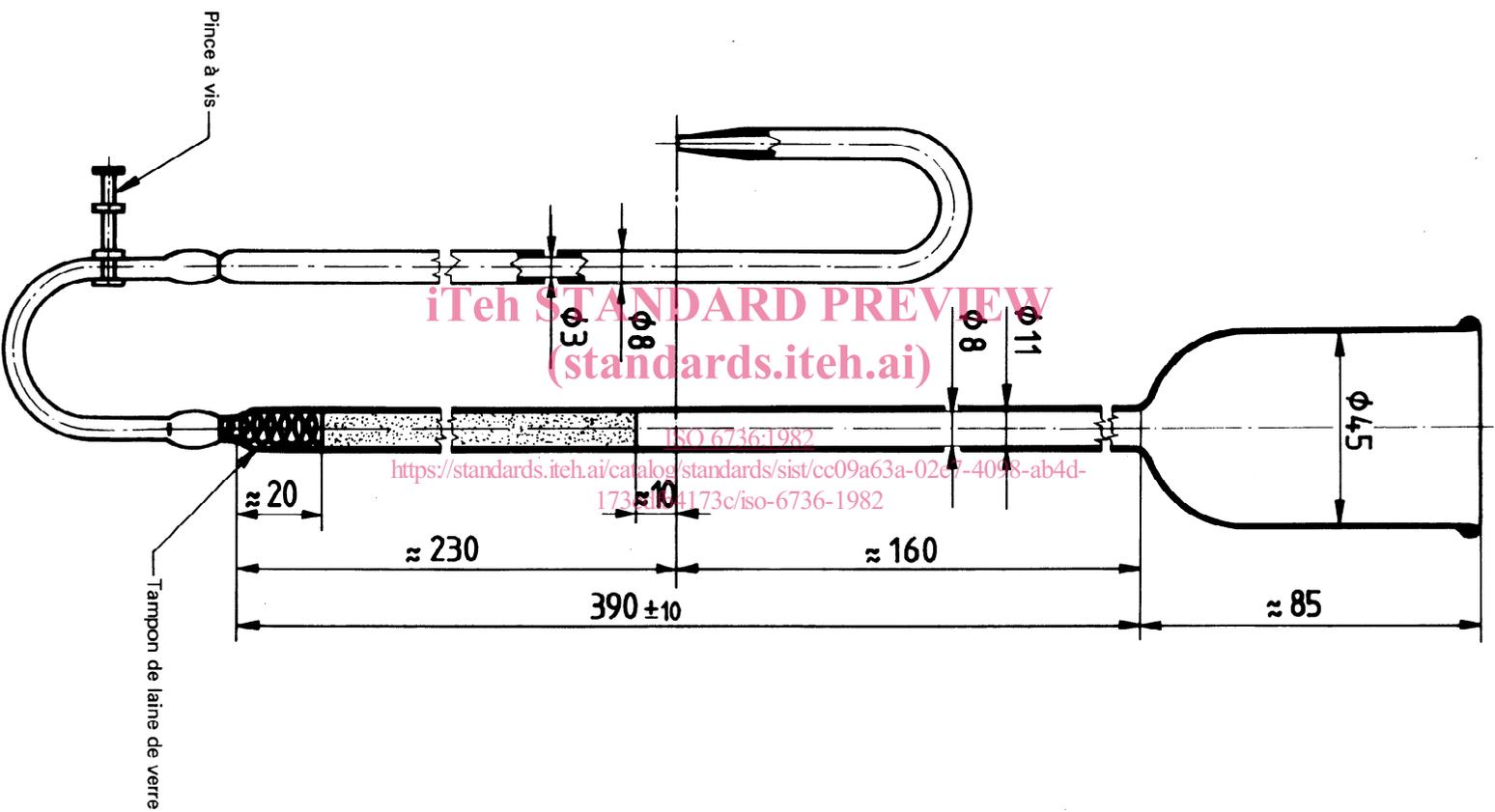


Figure — Appareil pour la réduction des nitrates